

Набор «ЛЮМТЕК» для определения общей чистоты поверхности по количеству АТФ

Инструкция по применению

1. Назначение

Набор «ЛЮМТЕК» предназначен для определения общей биологической чистоты поверхности по количеству АТФ биолюминесцентным методом

- *длительность анализа – 5-7 мин на 1 образец*
- *набор рассчитан на анализ 20 образцов в двух повторностях (40 измерений)*

2. Комплектация набора

Реагенты

- | | |
|--|---------|
| ▪ Флакон № 1 - АТФ-реагент ЛЮМТЕК, лиофилизированный | - 2 шт. |
| ▪ Флакон № 2 - Раствор для реконструкции АТФ-реагента | - 1 шт. |
| ▪ Флакон № 3 - АТФ-контроль, лиофилизированный | - 1 шт. |
| ▪ Флакон № 4 - Раствор реагента для разрушения клеток | - 1 шт. |
| ▪ Флакон № 5 (а) - Раствор для смачивания тампонов | - 1 шт. |

Внимание! Реагенты следует хранить в холодильнике при температуре 0 - 6 °С.

Расходные материалы, входящие в состав набора

- | | |
|---|----------|
| Микрокуветы полистирольные | - 45 шт. |
| Ватные тампоны, стерильные | - 25 шт. |
| Пробирки стерильные объемом 1,5 мл (типа «эппендорф») | - 25 шт. |

Расходные материалы и оборудование, поставляемые по заказу (не входящие в набор)

Автоматические дозаторы фиксированного объема на:

- | | |
|---------|---------|
| 0,02 мл | - 1 шт. |
| 0,10 мл | - 1 шт. |

Наконечники для дозаторов (комплект 50 шт.) - 2 комплекта

Люминометр «ЛЮМ-1» или другой прибор с аналогичными техническими характеристиками

ВНИМАНИЕ!

Для получения воспроизводимых результатов анализа молока необходимо соблюдать меры предосторожности, принятые при работе в микробиологической лаборатории, в частности:

- *перед проведением анализа поверхность лабораторного стола обработать 70% этанолом, высушить,*
- *использовать автоматические пипетки и стерильные одноразовые наконечники к ним,*
- *для выполнения каждой операции использовать новый стерильный наконечник,*
- *после анализа каждого образца молока штатив для фильтров, фланцевый наконечник шприца, пинцет и автоматические пипетки стерилизовать 70% этанолом.*

3. Проведение анализа

Подготовка реагентов к анализу

1. Во **флакон №1** внести 2 мл раствора из **флакона №2**, выдержать 30 мин перед использованием. Полученный раствор **АТФ-реагента** можно хранить при комнатной температуре в течение рабочего дня, а при 4°C – в течение 2-3 дней.
2. Во **флакон №3** внести 1 мл раствора из **флакона №5 (а)**, перемешать. Раствор **АТФ-контроля** следует использовать в течение 2-3 часов.
3. Пробирки (типа «эппендорф») пронумеровать по количеству анализируемых поверхностей, установить в штатив и внести в них по 0,2 мл **раствора для разрушения бактериальных клеток** из **флакона №4** + 1 пробирка для АТФ-контроля

Калибровка АТФ-реактента по АТФ-контролю

4. Кончик тампона погрузить в раствор с АТФ-контролем (**флакон №3**) и выдержать течение 20 сек. Вынуть увлажненный тампон из раствора и перенести его в 0,2 мл раствора для разрушения бактериальных клеток в пробирке (см. п.3). Выдержать в течение 2-3 мин, периодически вращая. Тампон вынуть из пробирки, отжав излишек жидкости о стенку. Получают раствор АТФ-контроля в растворе для разрушения бактериальных клеток.
5. Поместить микрокювету с помощью пинцета в кюветное отделение люминометра. Внести в нее с помощью автоматических дозаторов:
 - 0,02 мл раствора **АТФ-контроля**, полученного по пункту 4;
 - 0,10 мл раствора из **флакона №1**.
 Быстро перемешать содержимое фильтраветы, прокачав его 2-3 раза через наконечник дозатора, и измерить биолюминесцентный сигнал на люминометре.
6. Повторить измерения по пункту 5 и найти среднее значение биолюминесцентного сигнала для АТФ-контроля ($I_{\text{контр}}$).

Определение чистоты поверхности

7. Для каждого образца поверхности использовать новый стерильный ватный тампон. Погрузить кончик тампона в раствор во **флаконе №5 (а)**, выдержать течение 20 сек.
8. Влажным тампоном, подготовленным по пункту 7, тщательно протереть исследуемую поверхность, перемещая тампон сначала - по горизонтали, затем - по вертикали, и в конце - по диагонали.
9. Погрузить тампон в пробирку с 0,2 мл раствора для разрушения бактериальных клеток, подготовленного по п.3, выдержать в течение 1-2 мин, периодически вращая. Вынуть тампон из пробирки, отжав излишек жидкости о стенку, и закрыть пробирку.
10. Поместить микрокювету с помощью пинцета в кюветное отделение люминометра. Внести в нее с помощью автоматических дозаторов:
 - 0,02 мл раствора образца, полученного по пункту 9;
 - 0,10 мл раствора АТФ-реактента из **флакона №1**.
 быстро перемешать, прокачав 2-3 раза содержимое микрокюветы через наконечник дозатора, и измерить биолюминесцентный сигнал.
11. Повторить операции по пункту 10 со второй микрокюветой. Найти среднее значение биолюминесцентного сигнала для исследуемого образца ($I_{\text{обр}}$).
12. Рассчитать количество АТФ в исследуемом образце по формуле:

$$(\text{АТФ})_{\text{обр}} = 1,4 \cdot (I_{\text{обр}} / I_{\text{контр}}), \text{ пикомоль}$$
13. Оценить степень загрязненности поверхности по таблице:

Количество АТФ в образце, пикомоль	Степень загрязненности образца
< 0,01	Чисто
0,01 - 0,02	Недостаточно чисто
0,02 – 0,1	Грязно
≥ 0,1	Очень грязно

По вопросам использования и приобретения набора ЛЮМТЕК обращаться по тел. (495)-939 26 60, E-mail: iut@enz.chem.msu.ru или E-mail: unn@enz.chem.msu.ru web-site: www.lumtek.ru